

Title	Roles of the untranslated region of bromovirus genomic RNA in viral multiplication(Abstract_要旨)
Author(s)	Narabayashi, Taiki
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2015-05-25
URL	http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k19192
Right	許諾条件により本文は2015-07-01に公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

(続紙 1)

京都大学	博士（農学）	氏名	檜林 大樹
論文題目	Roles of the untranslated region of bromovirus genomic RNA in viral multiplication (ブロモウイルスの増殖におけるゲノム RNA 非翻訳領域の役割)		
(論文内容の要旨)			
<p>ウイルスの植物への感染は、しばしば植物体の様々な器官において生育阻害等の激しい病徴を引き起こす。植物ウイルスの防除法開発においては、植物ウイルスが宿主植物で増殖し、病徴を引き起こすメカニズムを解明する必要があるが、その詳細については明らかとなっていない。本論文では、<i>Melandrium yellow fleck bromovirus</i> (MYFV)をモデルウイルスとして用い、ウイルスゲノムの非翻訳領域(UTR)が植物細胞内におけるウイルス増殖に与える影響について研究を行った。その内容は以下の通りである。</p>			
<p>1. MYFV はブロモウイルス属に属する植物ウイルスであり、3 分節のプラスセンス一本鎖 RNA をゲノムとして持つ。RNA1 と RNA2 にはそれぞれウイルス RNA の複製と転写に関わる 1a と 2a タンパク質がコードされている。RNA3 にはウイルスの細胞間移行に関わる 3a タンパク質と外被タンパク質(CP)がコードされているが、CP は RNA3 のマイナス鎖から転写されるサブゲノム RNA4 から翻訳される。これまで遺伝子操作系が確立されていなかった MYFV の感染性 cDNA クローンを作成し、全塩基配列を決定した。その結果、MYFV は RNA3 の遺伝子間領域に poly(A)配列が無く、RNA3 の 5'非翻訳領域 (UTR) に約 200 塩基の反復配列が存在するなど、他のブロモウイルスとは異なるユニークなゲノム構造を持つことが明らかとなった。</p>			
<p>2. RNA3 の 5' UTR に種々の欠失あるいは塩基置換変異を導入し一細胞における増殖能を調べた結果、3a タンパク質遺伝子の開始コドンの約 20 塩基上流に予測される二本鎖 RNA 構造が RNA3 の蓄積に重要であることが示唆された。脱液胞化タバコ BY-2 プロトプラスト由来の <i>in vitro</i> 翻訳複製系を用いて解析をおこなった結果、この二本鎖構造は 3' UTR に存在するプロモーターから合成が始まるマイナス鎖 RNA 合成に関与していると考えられた。また、ブロモウイルスの複製酵素の種類によって RNA3 の複製に対するこの構造の必要性が異なったことから、二本鎖構造と MYFV の複製酵素の間に特異的な相互作用が存在することが分かった。</p>			
<p>3. RNA3 の 5' UTR のうち 3a コード領域近傍に存在する二本鎖構造領域に変異を導入すると、野生型と比較して CP の蓄積量は顕著に低下した。ウイルス感染のタイムコース解析の結果、この変異体では RNA3 と RNA4 の合成速度が低下することが明らかとなった。またポリソーム解析の結果、この変異による CP の翻訳効率の低下は認められなかったが、ウイルス感染後期には、野生型と変異体とともに CP の合成が抑制されることが明らかとなった。このことから、ウイルスの増殖において、ウイルス RNA の蓄積量だけでなく、感染経過に伴った適切なタイミングでの RNA 合成が重要であることが示された。</p>			

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は 1 頁を 3 8 字×3 6 行で作成し、合わせて、3, 0 0 0 字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、4 0 0 ~ 1, 1 0 0 words で作成し
審査結果の要旨は日本語 5 0 0 ~ 2, 0 0 0 字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

プラスセンス RNA ウイルスのゲノム RNA はウイルスタンパク質やマイナス鎖 RNA 合成の鋳型となるなど様々な役割を担う。このためウイルスが効率的に増殖する過程においては、ウイルス因子と様々な宿主因子による制御機構が存在している。しかしながら、その全容は未だ解明されていない。本論文では 3 分節の一本鎖プラスセンス RNA をゲノムとして持つプロモウイルスをモデルウイルスとして用い、植物 RNA ウイルスのゲノム RNA の複製および遺伝子発現制御機構におけるウイルス因子に焦点を当て、解析を行った。評価すべき点は以下のとおりである。

1. これまで遺伝子操作系が確立されていなかった MYFV の感染性 cDNA クローンを作成し、全塩基配列を決定した。他のプロモウイルスと比較解析をおこない、MYFV は RNA3 の遺伝子間領域に poly(A)配列が無く、RNA3 の 5' UTR に約 200 塩基の反復配列が存在するなど、ユニークなゲノム構造を持つことを明らかにした。
2. RNA3 の 5' UTR の反復配列の欠失体を野生型とともに植物細胞に接種すると、野生型が有意に蓄積したことから、この配列内部にウイルス感染に有利に働く因子が存在することが示唆された。
3. MYFV RNA3 の 5' UTR における変異体解析により、RNA3 の蓄積に重要な二本鎖 RNA 構造を新たに同定した。また *in vitro* 複製系を用い、この二本鎖構造がマイナス鎖 RNA 合成に関与している可能性を示した。さらに、二本鎖構造と MYFV の複製酵素の間に特異的な相互作用が存在する可能性を示した。
4. MYFV RNA3 と RNA4 の合成速度に影響を与える二本鎖構造を、MYFV RNA3 の 5' UTR 中に、新たに同定した。またゲノムおよびサブゲノム RNA の合成速度が変化することにより、ウイルスタンパク質の蓄積量が大きく変化したことから、ウイルスの増殖において、ウイルス RNA の蓄積量だけでなく、感染経過に伴った適切なタイミングでの RNA 合成も重要であることを示した。
5. 一細胞内でのウイルスの増殖において、ウイルスタンパク質の合成効率はウイルス感染初期と後期で大きく変化することを明らかにした。

以上のように、本論文は MYFV の全ゲノム配列を明らかにして感染性 cDNA クローンを作成するとともに、プロモウイルスのゲノム RNA 合成に関わる新たなウイルス因子を同定し、その機能を詳細に解析することにより、プラスセンス RNA ウイルスの一細胞における増殖機構でいくつかの重要な新知見を提示したものであり、植物病理学およびウイルス学の分野に寄与するところ大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成 27 年 3 月 20 日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から 3 ヶ月以内)